

본 논문을 최형주의 이학석사 학위논문으로 인준함.

2008년 2월

위원장	이학박사	서영환	인
-----	------	-----	---

위원	이학박사	조성환	인
----	------	-----	---

위원	이학박사	임선영	인
----	------	-----	---

한국해양대학교 대학원

이학석사 학위논문

건조 고등어 섭취가 마우스의 기억 학습 및
조직의 지방산 구성에 미치는 영향

Effect of intake of dried mackerel on learning behavior
and fatty acid compositions of tissues in mice

지도교수 임선영

2008 년 2 월

한 국 해 양 대 학 교 대 학 원

해양생명환경학과

최 형 주

목 차

	Page
목 차	iii
List of Tables	v
List of Figures	vi
Abstract	1
1. 서 론	3
2. 재료 및 방법	6
2-1. 재료	6
2-2. 실험동물 및 실험식이	7
2-3. 실험동물의 희생 및 시료의 채취	8
2-4. Passive avoidance test (수동회피반응 실험)	8
2-5. 조직의 단백질 정량	9
2-6. 혈청 및 조직의 지질 분석	9
2-7. 혈청 및 조직의 지방산 추출	10
2-8. Gas Chromatograph를 이용한 지방산 분석	10
2-9. 통계처리	10

3. 결과 및 고찰	11
3-1. 체중증가량,식이섭취량 및 식이효율	11
3-2. 장기의 중량	12
3-3. Passive avoidance test (수동회피반응 실험)	13
3-4. 혈청 및 조직 균질물의 단백질 정량	15
3-5. 혈청 및 조직 균질물의 지질 함량	16
3-6. 혈청 및 조직 지방산 조성	18
4. 국 문 요 약	28
5. 감사의 글	30
6. 참고 문헌	31

List of tables

	Page
Table 1. Diet compositions of the experimental groups —————	7
Table 2. Body weight gain, food intake and food efficiency rate (FER) in the experimental groups —————	11
Table 3. Weight of various organs in the experimental groups ———	12
Table 4. Concentration of protein in serum, liver, heart and kidney homogenates in the experimental groups —————	15
Table 5. Lipid profiles in serum, liver, heart and kidney homogenates in the experimental groups —————	17
Table 6. Effect of mackerel intake on mouse serum fatty acid composition (wt % of total fatty acids) —————	22
Table 7. Effect of mackerel intake on mouse cortex fatty acid composition (wt % of total fatty acids) —————	23
Table 8. Effect of mackerel intake on mouse cerebellum fatty acid composition (wt % of total fatty acids) —————	24
Table 9. Effect of mackerel intake on mouse liver fatty acid composition (wt % of total fatty acids) —————	25
Table 10. Effect of mackerel intake on mouse heart fatty acid composition (wt % of total fatty acids) —————	26
Table 11. Effect of mackerel intake on mouse kidney fatty acid composition (wt % of total fatty acids) —————	27

List of Figures

	Page
Fig 1. Photograph of <i>Scomber japonicus</i>	6
Fig 2. Effect of mackerel intake on the passive avoidance response	14

Effect of intake of dried mackerel on learning behavior and fatty acid compositions of tissues in mice

Houng Ju Choi

*Division of Marine Environment and Bioscience, Korea
Maritime University, Busan, 606-791, Korea*

Abstract

This study was investigated to determine the effect of feeding dried mackerel, enriched with DHA (docosahexaenoic acid, 22:6n-3) and EPA (eicosapentaenoic acid, 20:5n-3) as a means of increasing the intake of these n-3 polyunsaturated fatty acids on tissue triglyceride, cholesterol contents, fatty acid compositions and learning/memory ability. Thirty-two male mice were fed on the control (10% palm oil, control group) and 20% dried mackerel (mackerel group) diets for twelve weeks. Learning/memory ability was assessed by passive avoidance test. Both control and mackerel groups showed a shorter latency on the first day due to lack of experience about electric foot shock. Then latencies of each group were increased with repeated tests. The mackerel group showed a significantly longer latency compared to the control group on the second day ($P<0.05$). The results of lipid profiles showed that the levels of triglyceride (TG) in liver and heart were not significantly different between the control and mackerel groups. However TG levels were significantly decreased in plasma and kidney of

the mackerel group ($P<0.05$). Total cholesterol and LDL-cholesterol levels were decreased in plasma of the mackerel group compared to the control group ($P<0.05$). Total cholesterol levels tended to be decreased in heart and kidney of the mackerel group compared to the control group. HDL-cholesterol levels were significantly increased in liver of the mackerel group ($P<0.05$) compared to the control group and tended to be increased in heart and kidney. In fatty acid compositions of plasma, nervous tissue, liver, heart and kidney, the mackerel group showed increased total n-3 fatty acids, especially DHA and EPA levels compared to the control group ($P<0.05$). N-6 fatty acid levels, such as linolenic (18:2n-6, LA) and arachidonic (20:4n-6, AA) acids were decreased in the mackerel group compared to the control group. From the above results, it may be concluded that the intake of 20% dried mackerel improved learning related brain function with increased brain DHA.

1. 서론

고등어(*Scomber japonicus*)는 난류성 회유어종으로 우리나라 전근해역, 특히 남해안에 풍부하며, 값이 저렴하여 서민들에게 친근하며, 우리나라 바다에서 어획량이 많은 생선 중의 하나이다. 고등어는 정어리, 전갱이, 꽂치와 함께 4대 등 푸른 생선으로 '바다의 보리'라고 불릴 정도로 그 영양가가 풍부함을 인정받고 있다. 오메가-3 지방산뿐만 아니라, 고등어는 단백질, 지방, 칼슘, 인, 나트륨, 칼륨 등의 많은 종류의 영양소를 함유하고 있으며 또한 야채에서도 좀처럼 섭취하기 어려운 비타민 A, 비타민 B, 비타민 D도 함유하고 있다. 고등어는 조리가 간편하여 오랜 세월동안 소금에 절인 고등어구이나 조림, 튀김 등으로 우리 민족이 즐겨먹는 음식이 되어왔으며, 최근엔 고등어와 같은 등 푸른 생선이 두뇌에 좋은 효과가 있다고 알려져 있어 웰빙 건강식품으로도 인기를 끌고 있다.

등 푸른 생선, 특히 고등어에 많이 함유된 docosahexaenoic acid (DHA, 22:6n-3) 및 eicosapentaenoic acid (EPA, 20:5n-3)와 같은 오메가-3 지방산은 불포화지방산의 일종으로 신경세포막과 망막에 분포하며, 세포막에서 전기적인 자극을 빠른 속도로 다음 세포에 전달하는 역할을 한다. 이렇듯 인간의 건강과 질병에 중요한 역할을 하고 있다는 것이 알려지면서 여러 가지 연구가 활발하게 이루어져 왔다. 몸에서 출혈이 될 때 피를 엉기게 하여 더 이상의 출혈이 일어나지 않도록 지혈을 해주는 혈액 속의 혈소판이 있다. 하지만 피를 엉기게 하는 성질은 거꾸로 동맥경화가 진행될 때 혈관 내에서 엉겨 붙으면서 혈관을 막아버리는 역기능을 하여 발병되는 뇌졸중(뇌경색)과 협심증, 심근경색증 등 심장질환의 발병 위험을 낮추기 위해 오메가-3 지방산이 많이 함유된 식이를 섭취하면 혈소판 응집억제[1,2], 혈압감소[3,4]에 영향을 주어 동맥경화 감소[1] 등의 효과가 있을 뿐 아니라, 혈액 중 콜레스테롤 농도의 저하[3,5-7] 및 중성지질 저하작용[5,7,8-10] 등의 여러 생리효과가 있다고 보고되었다. 순환기 질환 예방을 위해서 식물성 기름에 다량 함유되어 있는 오메가-6 지방산인 linoleic acid (LA, 18:2n-6)가 권장되어 왔으나, DHA 및 EPA와 같은 오메가-3 지방산이 LA보다 더 효과적인 것으로 알려져 있어[8,11,12], 오메가-3 지방산의 섭취가 점점 늘어가는 추세이다. DHA는 분자구조상 세포막을 유동적으로 만들어 혈액을 흐르기 좋은 형태로 만들어주고, 동시에 LDL-콜레스테롤을 제거해 동맥경화를 예방함으로써 혈압을 낮추는 효과가 있으며, 특히 학습과 기억 등의 지능과 사고력을 담당하는 뇌세포 그리고 망막 등의 신경조직에 높은 농도로

존재하는 것을 미루어 보아(20~25%), 이들 장기에서 오메가-3 계열의 다가불포화지방산은 신경세포막을 구성하는 중요한 물질로써 신경세포들 간의 신경전달에 필수적인 역할을 담당하는 것으로 보고되었다[13-15]. 게다가 영장류와 신생아에게는 DHA가 망막과 뇌의 정상적인 기능적 발달에 필수적이다[16]. 오메가-3계 지방산이 결핍된 식이를 2세대에 걸쳐 섭취시킨 경우에 오메가-3계 지방산을 충분히 식이를 통해 섭취한 경우보다 특히 뇌에서 DHA의 결핍이 증명되었으며, 이는 시각이나 후각 기능 또한 공간기억력에 영향을 미친다는 것이 보고되었다[17]. 유아들은 어머니의 태반에서부터 수유기까지 어머니로부터 DHA를 공급받아 뇌의 회백질(뇌신경조직), 신경세포, 안구의 신경조직들을 형성하는 것으로 알려져 있어 임산부에게 DHA를 함유하고 있는 생선을 섭취하는 것이 권장되고 있다[18]. 또한 DHA는 실험동물의 기억 학습능력을 비롯한 뇌 기능 향상에 기여하며[19-21], 뇌신경을 활성화해 머리를 좋게 하고 치매 예방에 효과가 있으며 시력도 좋게 한다고 알려져 있다[17,22-26]. 한편, 에스키모에 사는 사람들이 동맥경화, 뇌경색 그리고 심근경색 등의 성인병이 적은 이유는 그들이 주식으로 하고 있는 물고기와 바다표범 및 해조류에 많이 함유되어 있는 EPA의 섭취에 따른 체질 때문임이 밝혀져 EPA의 섭취가 중요시되었다. EPA는 DHA와 같이 안구 뒤쪽에 위치한 망막세포와 기억력을 관장하는 대뇌 해마세포의 주성분으로서, 인체기능에 꼭 필요한 영양소일 뿐 아니라 혈전 형성을 막아 동맥경화, 뇌졸중 등을 예방해주어 순환계를 건강하게 유지시키는데 중요한 역할을 하는 지방산으로써, 심장보호 및 기능 활성화와 중성지질과 LDL-콜레스테롤 수치를 낮추는데 효과가 있다[2,5]. 생체에 필요한 콜레스테롤은 주로 간에서 생성되는데 다가불포화지방산 (polyunsaturated fatty acids, PUFAs)을 섭취하면 간에서 지방산의 합성이 억제되고 장관 내 콜레스테롤의 흡수를 저해하며 조직세포로부터 콜레스테롤이 제거되고 이런 콜레스테롤은 주로 담즙산의 형태로 전환되어 소화관 내의 담즙으로 배설된다[27,28].

오메가-3계 다가불포화지방산은 구조상 이중결합이 많아 체내 외에서 쉽게 산화된다는 단점이 있지만, 고등어는 이런 산화를 막는 천연 항산화제인 비타민 E까지 풍부하게 함유하고 있어 자동산화의 용이성을 감소시킬 수가 있다[29]. 이 밖에도 고등어 메탄올 추출물이 Ames test에서 돌연변이유발 억제효과를 나타내었고 인체 위암 및 결장암세포 증식 억제효과가 있음을 보고되었다[30]. 다만 DHA와 EPA는 자연계의 담수 또는 해수 중에 서식하는 플랑크톤 및 해조류에서만 생합성이 되며, 인간을 포함한 고등동물에서는 합성되지 않아 음식을 통해 섭취해야 하는 필수 지방산 중 하나이다. DHA는 생체 내에서

전구물질인 α -linolenic acid (LNA, 18:3n-3)의 불포화와 탄소사슬의 연장반응을 거치면서 생합성 된다. 이렇듯 오메가-3계 지방산을 섭취해야 하며, 그 필요량을 충족시키기 위해서 미국, 유럽뿐만 아니라 우리나라에서도 DHA 등 오메가-3 지방산을 상품화한 캡슐로 제조하여 건강식품으로 판매가 되고 있다. 본 연구에서는 오메가-3계 지방산을 많이 함유하고 있는 고등어를 선택하여, 기존의 열풍건조기계의 단점인 높은 온도에 의한 영양소 손실을 막기 위하여 저온진공 건조기[31]를 도입하였다. 건조된 고등어를 마우스에 섭취시켜 고등어에 의한 혈청, 신경조직, 간, 심장 및 신장에서의 지질 및 지방산 조성의 변화와 마우스의 기억학습에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2-1. 재료

2006년 12월 남해안에서 잡힌 선도가 양호하며 어체의 중량 (540 g)이 비슷한 고등어 15마리를 구입하였다. 신선한 상태에서 머리와 꼬리, 내장을 제거한 후 뼈를 중심으로 반으로 나누었다. 반으로 나눈 고등어는 3등분으로 포를 떼으며 저온 진공 건조기를 이용하여 40℃에서 40 torr의 압력으로 5 mm 두께로 30시간 건조하였다. 건조된 고등어 파우더는 실험 사용 전까지 -75℃에 냉동 보관되었다. 건조된 고등어의 지방산 분석 결과, 총 포화지방산 24%, 총 단일 불포화 지방산 16.5%, arachidonic acid (AA) 2.64%, EPA 10.6% 및 DHA 16.6%로 나타났다.

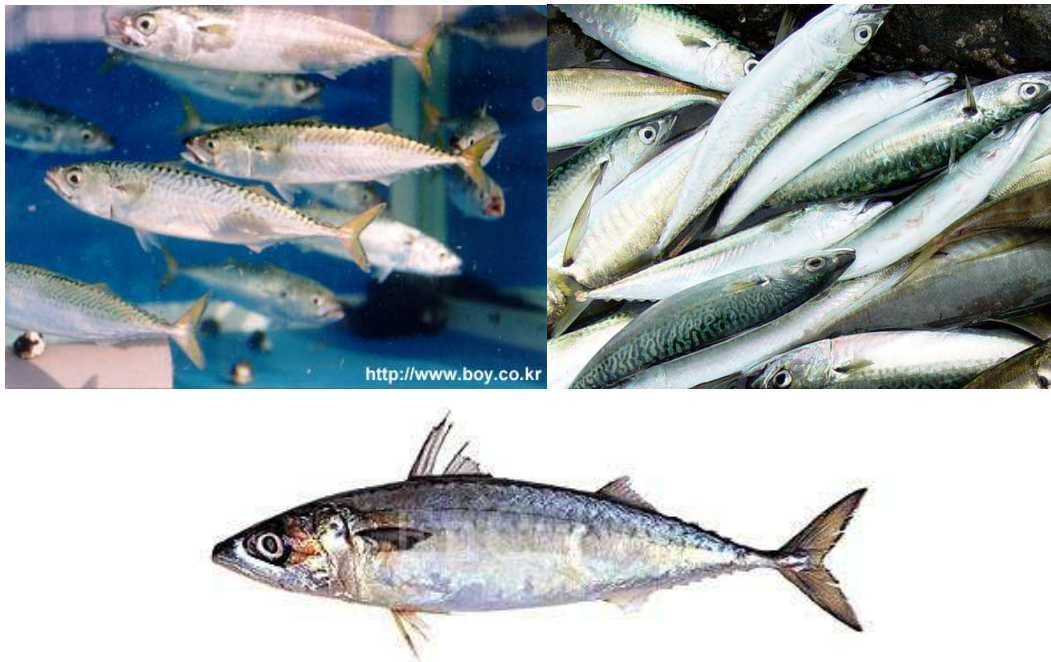


Fig 1. Photograph of *Scomber japonicus*

2-2. 실험동물 및 실험식이

본 실험에서는 체중 약 19.8 ± 0.1 g의 4주령 ICR 종의 수컷 마우스 32마리를 (주)중앙실험동물로부터 구입하였다. 32마리의 마우스를 체중을 고려하여 각 그룹 당 16마리씩 나누어 12주간 사육하였다. 사육조건은 적정 환경인 온도 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 로 하였으며, 명암은 12시간 cycle로 자동 조절되게 하였고 식수와 실험 식이는 자유섭취하게 하였다. 본 실험에 사용된 고형사료는 AIN-93[32]에 따른 식이로 지방의 급원을 변형하여 (주)한샘 R&D 식이회사에 의뢰하여 pellet으로 조제하였다. control군의 경우 지방 함량을 10%로 조절하고 주요 지방으로 palm oil을 사용하였고, mackerel군의 경우 고등어가 함유하고 있는 3대 에너지원 영양소들의 함량을 고려하여 나머지를 palm oil로 대체하였다(Table 1). 식이섭취량과 체중은 전 실험기간 동안 매일 일정시간에 측정하였다. 식이효율(food efficiency ratio, FER)은 실험기간 동안의 체중증가량을 식이섭취량으로 나누어 다음과 같이 산출하였다.

$$\text{FER (\%)} = \frac{\text{총 사육 기간의 체중증가량 (g)}}{\text{총 사육 기간의 식이섭취량 (g)}} \times 100$$

Table 1. Diet compositions of the experimental groups

	Control	Mackerel
	g/kg	
Corn starch	438	423
Casein	200	81
Sucrose	150	150
Cellulose	50	50
Mineral mix	40	40
Vitamin mix	20	20
DL-methionine	2	2
Palm oil	100	34.9
Dried mackerel powder		200

2-3. 실험동물의 희생 및 시료의 채취

사육기간 11주가 완료된 후 실험동물을 단두 절단하여 채혈한 후 즉시 해부하여 간, 대뇌 피질, 소뇌, 심장 및 신장을 적출하였다. 적출한 각 장기들은 중량을 측정 후, 액체 질소가스에서 급속 냉동하여 추후 실험 전까지 -75°C 에서 냉동 보관하여 분석에 이용하였다.

2-4. *Passive avoidance test* (수동회피반응 실험)

사육기간이 10주가 되었을 때, 수동회피반응 실험(passive avoidance test)을 4일간 실시하였다. 실험 장치로 사용된 Gemini™ Avoidance system (SDI Inc., San Diego, USA)은 동일한 크기의 두 개의 방($17 \times 12 \times 11$ cm)으로 구성되어 있으며, 방과 방 사이에는 sliding door (6×6 cm)가 설치되어 있다. 두 개의 방 중 start room으로 사용되는 방에는 적응시간이 지나면 house light를 비추어 밝게 하였으며, 나머지 한쪽 방은 빛을 차단하여 어둡게 하였다. 두 개의 방의 바닥에는 전기 쇼크를 줄 수 있는 steel rod grid (직격 5 mm)가 1 cm 간격으로 설치되어있으며, 전기 쇼크는 start room으로 사용되지 않는 나머지 한쪽 방에서만 받게 설정하였다. 실험은 마우스를 start room에서 60초 동안 적응시킨 뒤 적응시간이 경과하면 두 개의 방 사이에 있는 sliding door가 자동으로 열리도록 하였다. 마우스가 반대쪽 어두운 방으로 옮겨가면 벽의 아래쪽에 있는 센서가 마우스를 인지하여 자동으로 sliding door가 닫히면서 마우스는 grid floor로부터 1초간 0.4 mA의 전기쇼크를 받게 하였다(학습훈련). 이 학습훈련 24시간 후 마우스들은 위와 같은 훈련을 시행하면, 전날의 전기쇼크의 기억이 형성되어 처음과는 달리 어두운 방으로 잘 옮겨가지 않게 되는데, 이때 마우스를 동일한 실험 장치의 start room에서 반대편 방으로 옮겨가는데 걸리는 시간(latency)을 측정하여(기억력 실험) 학습 및 기억 습득의 지표로 삼았다. 5분 이상의 latency를 가지는 경우는 기억이 완전히 형성된 것으로 간주하여 최대 latency를 5분으로 하였다.

2-5. 조직의 단백질 정량

혈청을 제외한 적출된 각 장기들은 homogenizing buffer (154 mM KCl, 50 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 7.4)로 균질화한 다음 4℃의 3,000 rpm에서 10분간 원심분리(Combi-514R, 인천, 한국)하였다. 원심분리 후 상층액을 취하여 분석 전까지 -75℃에 보관하였다. 단백질 정량은 bradford 방법[33]에 기초한 kit 시약(Bio-rad, Hercules, USA)을 사용하여 분석하였다. 3차 증류수로 5배 희석된 발색시약에 시료와 농도별로 준비된 표준용액을 첨가하여 잘 혼합한 후, 실온에서 최소 5분 동안 반응시켜 발색시킨 뒤 흡광도계(Thermo Spectronic, Waltham, USA) 595 nm에서 흡광도를 측정하였다. 단백질의 표준용액의 표준곡선과 시료의 흡광도를 비교하여 단백질의 함량을 구하였다.

2-6. 혈청 및 조직의 지질 분석

중성지질(Triglyceride) 함량은 표준 효소법에 의해 kit 시약(신양화학약품주식회사, 서울, 한국)을 사용하여 분석하였다[34]. 즉 시료에 발색시약을 첨가하여 혼합한 후 37℃ 항온수조에서 5분간 반응시켜 발색시킨 뒤 흡광도계(Thermo Spectronic, Waltham, USA) 505 nm에서 흡광도를 측정하였다. 중성지질의 표준용액을 농도별로 준비한 것을 위의 방법과 동일하게 발색시켜 표준곡선을 만든 후, 시료의 흡광도와 비교하여 중성지질 함량을 구하였다.

총콜레스테롤 함량은 위의 방법과 동일한 방법으로 표준 효소법에 의해 kit 시약(신양화학약품주식회사, 서울, 한국)을 사용하여 분석하였다[35]. 시료의 흡광도를 총콜레스테롤의 농도별 표준용액 표준곡선과 비교하여 시료의 총콜레스테롤 함량을 구하였다.

HDL-콜레스테롤 함량은 시료와 침전시액(Phosphotungstic acid-MgCl₂)을 1:1의 비율로 잘 혼합하여 실온에서 10분 이상 방치 후 300 rpm에서 10분간 원심 분리하여 그 상층액을 시료로 표준 효소법에 의해 kit 시약(신양화학약품주식회사, 서울, 한국)을 사용하여 555 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료의 흡광도를 HDL-콜레스테롤의 농도별 표준용액 표준곡선과 비교하여 시료의 HDL-콜레스테롤 함량을 구하였다. LDL-콜레스테롤 함량은 별도의 kit 시약을 사용하지 않고, 다음의 Friedewald[36]식을 이용하여 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{LDL-cholesterol (mg/dl)} = \text{total cholesterol} - (\text{HDL-cholesterol} + \text{triglyceride}/5)$$

2-7. 혈청 및 조직의 지방산 추출

지방산 분석은 Folch 등[37]을 변형하여 실시하였으며 간단히 요약하면 다음과 같다. 생체조직을 butylated hydroxy toluene(BHT)를 함께 함유한 methanol로 교반하여 균질화 하였다. 균질물을 1 ml 취한 후, chloroform 2 ml와 0.2 M NaH_2PO_4 1.4 ml를 넣고 교반하여 4℃, 3,000 rpm에서 3분간 원심분리 후 아래층인 지질층을 얻었다. 이와 같은 방법을 한 번 더 진행한 뒤 최종적으로 질소가스를 이용하여 서서히 지질층의 유기용매를 완전히 날린 다음 지질을 얻었다. Morrison과 Smith의 방법[38]에 따라 추출된 지질에 methylation용 시약인 boron trifluoride methanol (BF_3) 1 ml와 hexane 0.4 ml를 가한 후 1시간동안 100℃에서 가열하였다. 1시간 후 실온까지 충분히 냉각시킨 다음 hexane 2 ml와 증류수 2 ml를 가한 후 다시 4℃, 3,000 rpm에서 3분간 원심분리 후 상등액을 얻었다.

2-8. Gas Chromatograph를 이용한 지방산 분석

혈청 및 조직에서 추출한 지방산 상등액을 질소가스 하에서 조금 날린 후, 상등액 1 μl 를 취하여 지방산 분석용 VARIAN CP-3380 gas chromatography에 주입하여 지방산을 분석하였다[39]. 지방산 분석에 사용한 표준용액은 미국 Supelco사의 37 Component FAME Mix를 이용하였다. 이용된 column은 silica capillary column (SP-2560, 100 m \times 0.25 mm inner diameter \times 0.20 μm film thickness)이다. 기기의 분석조건은 detector (FID) 260℃, oven (초기 온도 : 140℃, hold time : 5min, 분당 증가율은 3℃/min로 240℃까지 hold time : 20 min), injector 260℃ 그리고 carrier gas는 헬륨을 사용하였다. 지방산 분석은 표준용액의 retention time시간과 비교하여 정성하였고, 내부 표준물질(22:3n-3 methyl ester)을 이용하여 총 지방산을 정량하였으며 개개의 지방산들은 전체 peak area의 퍼센트로 산출하였다.

2-9. 통계처리

본 실험결과는 각 항목에 따라 mean \pm SEM으로 나타내었고, 각 군별로 유의성 검증을 위해서 Statistica program을 이용하여 $P < 0.05$ 수준에서 one-way ANOVA로 검증하였다.

3. 결과 및 고찰

3-1. 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율

실험기간동안 control군과 고등어를 첨가한 식이를 섭취시킨 mackerel군을 12주간 사육한 후 마우스의 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율은 Table 2에 나타내었다. 사육 기간 동안 체중증가량과 식이섭취량 및 식이효율은 control군과 mackerel군이 서로 유사하였으며 유의적 차이가 없었다.

Table 2. Body weight gain, food intake and food efficiency rate (FER) in the experimental groups

	Weight gain (g/day)	Food intake (g/day)	FER
Control	0.45 ± 0.03 ¹	6.15 ± 0.12	0.09 ± 0.01
Mackerel	0.46 ± 0.02	6.12 ± 0.08	0.09 ± 0.01

¹Each variable represents the mean ± SEM, n=16.

3-2. 장기의 중량

실험동물을 단두 절단하여 채혈한 후 적출된 대뇌 피질, 소뇌, 간, 심장 및 신장의 각 중량은 Table 3에 나타내었다. 다른 조직에서는 유의적 차이가 없었으나 대뇌 피질의 중량이 control군보다 mackerel군에서 유의적으로 증가하였다($P<0.05$).

Table 3. Weight of various organs in the experimental groups

		Weight (mg)
Cortex	Control	0.33 ± 0.01^1
	Mackerel	$0.35 \pm 0.005^*$
Cerebellum	Control	0.17 ± 0.01
	Mackerel	0.17 ± 0.01
Liver	Control	2.45 ± 0.19
	Mackerel	2.37 ± 0.12
Heart	Control	0.23 ± 0.01
	Mackerel	0.22 ± 0.01
Kidney	Control	0.66 ± 0.03
	Mackerel	0.72 ± 0.02

¹Each variable represents the mean \pm SEM, n=16.

3-3. *Passive avoidance test* (수동회피반응실험)

학습 훈련(learning trial)과 기억력 시험(memory acquisition test)을 통한 수동회피반응으로 마우스들이 밝은 쪽 방에서 어두운 쪽 방으로 옮겨가는데 걸리는 시간(latency)을 control군과 mackerel군 별로 측정한 것을 Fig 1에 나타내었다. 모든 마우스들의 latency가 300초가 되면 실험을 종료하기로 하여 총 실험기간은 4일 동안 동일한 조건에서 실험이 진행되었다. 실험 첫 번째 날은 마우스들의 학습훈련으로 control군의 평균 latency는 22.4초였고, mackerel군의 평균 latency는 9.0초로 모두 30초 이내의 평균 latency를 나타내어 각 군의 평균 latency는 큰 차이가 없었다. 24시간이 경과한 실험 두 번째 날은 control군의 평균 latency는 70.1초로, mackerel군의 평균 latency는 control군의 평균 latency보다 증가된 131.2초를 기록하여 전날의 학습훈련을 통하여 습득한 어두운 방에서의 전기쇼크를 경험함으로써 첫 번째 날보다 각 군의 평균 latency가 증가하였음을 보였다($P < 0.05$). 실험 세 번째 날에도 전날의 각 군의 평균 latency보다 control군과 mackerel군의 평균 latency가 각각 187.2초, 202.9초로 증가하였음을 관찰할 수 있었으며, control군에 비해 mackerel군의 평균 latency가 더 높았음을 관찰할 수 있었다. 실험 네 번째 날의 각 군의 평균 latency는 control군은 231.6초를, mackerel군은 250.7초로 이 역시 전날의 평균 latency 기록보다 증가하였고, control군에 비해 mackerel군의 마우스들이 기억력 실험에서 전기 자극에 대한 기억 및 학습능력이 높은 것을 관찰할 수가 있었다. Minami 등[40]은 자발적 고혈압 마우스(stroke-prone spontaneously hypertensive rats, SHRSP)에게 DHA를 식이에 첨가하여 급여하였을 때, passive avoidance test를 통해 기억력이 손상된 마우스들이 다시 기억력을 유의적으로 회복하였다고 보고하였다. 어미 rat들에게 임신기와 수유기 동안 필수 지방산(essential fatty acids, EFAs)이 결핍된 식이를 공급하였을 때, 태어난 rat들의 기억력이 손상된 것을 passive avoidance test를 통해 관찰하였다. 또한 DHA가 많이 함유된 생선 기름을 섭취한 경우는 palm oil을 섭취한 경우에 비해 마우스의 미로 학습 및 기억력이 개선되었다고 보고하였다[41].

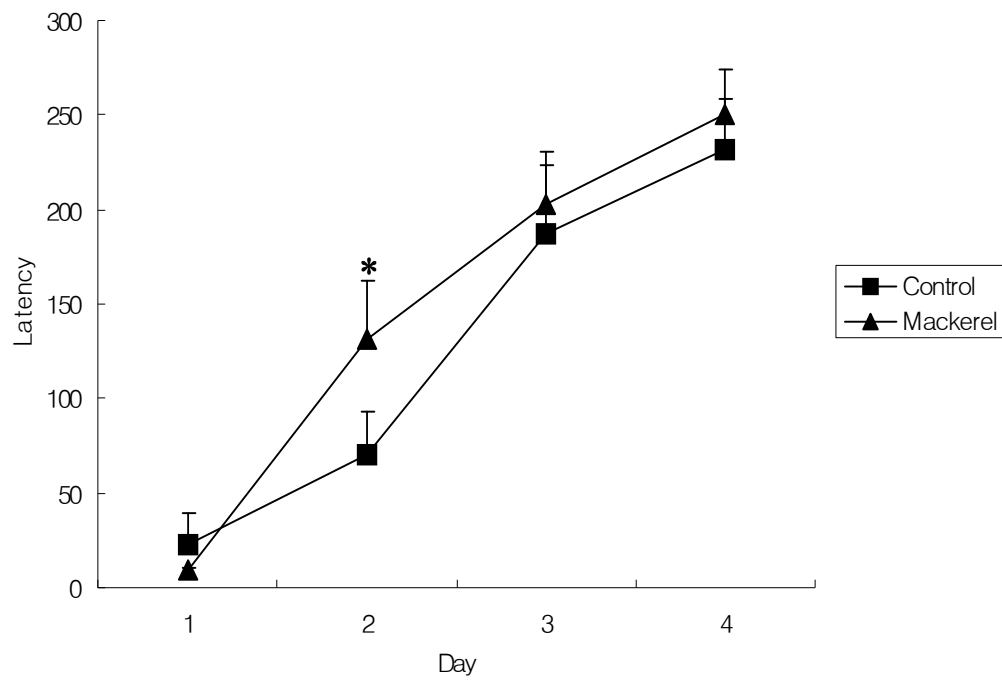


Fig 2. Effect of mackerel intake on the passive avoidance response

3-4. 혈청 및 조직 균질물의 단백질 정량

Bio-rad 사의 단백질 정량 kit를 사용하여 혈청과 간, 심장 그리고 신장의 단백질을 정량한 결과를 Table 3에 나타내었다. 혈청과 조직 균질물의 경우 각각 control군과 mackerel군의 단백질량이 유사하였으며 유의적 차이는 보이지 않았다.

Table 4. Concentration of protein in serum and liver, heart and kidney homogenates in the experimental groups

		Protein (mg/ml)
Serum	Control	63.0 ± 1.57 ¹
	Mackerel	68.2 ± 2.25
Liver Homogenates	Control	50.0 ± 2.38
	Mackerel	59.2 ± 4.56
Heart Homogenates	Control	30.6 ± 3.43
	Mackerel	30.9 ± 2.13
Kidney Homogenates	Control	43.3 ± 3.01
	Mackerel	40.4 ± 2.41

¹Each variable represents the mean ± SEM, n=6.

3-5. 혈청 및 조직 균질물의 지질 함량

마우스에 control군과 고등어가 첨가된 식이를 12주간 섭취시킨 후 각 군의 마우스들의 혈청, 간, 심장, 및 신장을 취하여 중성지질, 총콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤 함량을 측정된 결과는 Table 3과 같다. 혈청의 경우, control군과 mackerel군 간의 HDL-콜레스테롤의 함량은 유의적 차이를 보이지 않았으나 반면 mackerel군의 중성지질과 총콜레스테롤 및 LDL-콜레스테롤의 함량이 control군보다 각각 43%, 41% 및 46%로 감소하였다($P<0.05$). 간의 중성지질의 함량은 control군에 비해 mackerel군이 낮은 경향을 나타내었지만 유의적 차이를 나타내지 않았다. 한편, mackerel군의 HDL-콜레스테롤의 함량의 경우 control군보다 51%로 증가하였다($P<0.05$). Kim과 Park[42]은 지방 급원을 달리하여 n-6 급원인 옥수수유, linolenic acid 급원인 들깨유 및 EPA+DHA 급원인 어유를 여성에게 2주간 섭취시켰을 때 혈장 총콜레스테롤은 어유 급여 시 가장 많이 감소되었으며 옥수수급여에 의해 유의적인 증가를 나타내었고 혈장 중성지질 함량은 어유에 의해 유의적으로 감소하였으며 다음으로 들깨유, 옥수수유 순이었다고 보고하였다. 여성을 대상으로 하는 Park과 Han의 연구결과에서도 어유 섭취에 의해 HDL-콜레스테롤은 증가하였고 혈청 중성지질의 농도는 감소하였다고 보고하였다[43]. 동물실험에서도 정어리유, 대두유, 돈지에 의한 쥐의 혈액 지질에 미치는 영향을 조사한 결과, 혈장 총콜레스테롤과 중성 지질함량은 정어리유 급여 시 낮게 나타났다고 보고하였다[44]. 심장의 중성지질과 총콜레스테롤의 함량은 mackerel군이 control군보다 감소하는 경향을 보였지만 유의적 차이를 나타내지 않았고, mackerel군의 HDL-콜레스테롤의 함량 역시 control군에 비해 증가하는 경향을 나타내었지만 유의적 차이를 보이지 않았다. 신장의 경우 중성지질의 함량은 control군에 비해 mackerel군에서 34%로 감소하였다($P<0.05$). 한편 mackerel군의 총콜레스테롤의 함량은 감소하는 경향을 나타내었고, HDL-콜레스테롤의 함량은 증가하는 경향을 나타내었지만 유의적 차이가 보이지 않았다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때 n-3 지방산은 혈액 중 중성지질과 콜레스테롤 함량의 저하를 유도하고 HDL-콜레스테롤 함량을 상승시키는 것을 알 수가 있었다.

Table 5. Lipid profiles in serum, liver, heart and kidney homogenates in the experimental groups

		Triglyceride	Cholesterol ($\mu\text{g}/\text{mg}$ protein)		
		($\mu\text{g}/\text{mg}$ protein)	Total	LDL	HDL
Serum	Control	24.9 ± 1.86^1	28.0 ± 2.30	19.0 ± 1.90	4.08 ± 0.95
	Mackerel	$14.2 \pm 0.78^*$	$16.5 \pm 0.95^*$	$10.2 \pm 1.35^*$	3.48 ± 1.32
Liver	Control	153.4 ± 15.2	45.4 ± 2.1	13.9 ± 4.52	0.85 ± 0.07
	Mackerel	113.7 ± 13.4	45.5 ± 2.5	21.5 ± 1.71	$1.28 \pm 0.05^*$
Heart	Control	46.0 ± 5.36	16.8 ± 1.82	6.21 ± 0.84	1.40 ± 0.35
	Mackerel	34.5 ± 1.86	15.9 ± 1.31	7.38 ± 1.40	1.62 ± 0.41
Kidney	Control	75.8 ± 4.43	24.4 ± 1.20	8.57 ± 1.73	0.64 ± 0.03
	Mackerel	$49.7 \pm 3.78^*$	23.9 ± 2.28	13.3 ± 1.72	0.68 ± 0.05

¹Each variable represents the mean \pm SEM, n=6.

*P<0.05, significant effect between the control and mackerel groups

3-6. 혈청 및 조직 지방산 조성

고등어에 많이 함유된 n-3 지방산이 조직의 지방산 조성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 control군과 고등어를 첨가한 식이를 섭취한 mackerel군의 마우스로부터 혈청, 간, 대뇌 피질, 소뇌, 심장 및 신장 조직을 취해 이들 조직들의 지방산 조성을 비교 검토하였다(Table 6-11). Table 6는 혈청의 지방산 조성을 나타내고 있으며, 총 지방산의 함량에는 유의적 차이가 없었으나, 총 포화 지방산의 함량은 mackerel군에서 control군보다 14%로 증가한 반면 총 monounsaturated 지방산의 함량은 control군보다 52%로 감소하였다($P<0.05$). Mackerel군의 총 n-6 지방산의 함량은 control군에 비해 22%로 감소하였고 n-6 계열 지방산 중에서 20:2n-6, 20:3n-6 및 DPAn-6의 함량은 control군보다 각각 44%, 82% 및 78%로 감소하였으며 22:2n-6의 함량은 mackerel군이 control군에 비해 8.2배 증가하였다($P<0.05$). N-3 계열 지방산 중에서 20:2n-2의 함량은 control군보다 mackerel군에서 각각 74%로 감소한 반면 총 n-3 지방산의 함량과 특히 EPA와 DHA의 함량은 control군보다 mackerel군에서 각각 12.0배, 52.9배 및 13.9배로 상당히 증가하였다($P<0.05$). Choi 등[44]의 연구에서 정어리를 실험동물에 급여 했을 때 대두유 및 돈지를 급여한 군들보다 적혈구 인지질의 지방산 조성에서 n-3 지방산은 증가하고 n-6 지방산은 감소하였다고 보고하였다. N-3계 EPA와 DHA의 함유 비율이 높은 정어리유와 n-6계 linoleic acid의 함유 비율이 높은 홍화유의 혼합급여가 고지질 식이 흰쥐의 혈청의 지방산 대사에 미치는 영향에 관한 연구에서 혈청 인지질, 중성지질 및 콜레스테롤 에스테르의 지방산 조성은 홍화유의 혼합비율이 증가함에 따라 n-3계 지방산 및 EPA/AA 비율은 감소되는 반면 n-6계 지방산 및 arachidonic acid (AA)/polyunsaturated fatty acid의 비율은 증가되는 경향[45]을 나타내었으며 혈청 콜레스테롤, LDL 콜레스테롤 및 중성지질의 농도는 어유 혼합 식이군에서 낮았다고 보고하였다[46]. 또한 Lim[47]은 n-3 지방산이 결핍된 식이와 n-3 지방산이 적절히 함유된 식이, 그리고 표준식이(control군)를 각각 마우스에서 섭취시킨 후, 혈청의 지방산 조성을 살펴보았을 때, n-3 지방산 결핍군에서 n-3 지방산 적절군과 control군에 비해 DHA의 함량 및 docosapentaenoic acid (22:5n-6, DPAn-6) 와 DHA의 함은 유의적으로 감소하였으며, DPAn-6/DHA의 비는 증가하였음을 확인하였다.

Table 7는 대뇌 피질의 지방산 조성을 나타내고 있으며, 총 포화지방산과 총 monounsaturated 지방산 및 총 지방산의 함량에는 두 군 간에 차이가 없었

다. 총 n-6 지방산의 함량의 경우 mackerel군에서 control군보다 33%로 감소하였으며, n-6 계열 지방산 중에서 20:4n-6과 DPAn-6의 함량은 control군보다 각각 31%, 63%로 감소하였다($P<0.05$). Mackerel군의 총 n-3 지방산의 함량은 control군에 비해 33%로 증가하였으며, DHA의 함량은 mackerel군에서 control군보다 34%로 증가하였다($P<0.05$). DHA는 뇌의 피질과 망막 인지질의 주요 다가불포화지방산으로, 영장류의 뇌 성장 발달은 초기에 급속히 이루어져 태아기와 생후 1년 이내에 점차적으로 DHA의 전량을 축적하므로 DHA 또는 그 전구체인 n-3계 다가불포화지방산이 모체와 유아 식이에 제공되어야 한다고 보고된 바가 있다[18,48]. Lim[49]은 n-3계 지방산이 결핍된 식이를 섭취한 쥐는 뇌 DHA가 이유기 때는 50%, 성숙기에는 70%까지 감소하였고 반면, n-6계열인 DPAn-6의 함량은 상당히 증가하였음을 보고하였다. 이러한 지방산 조성의 변화는 실험쥐의 공간기억력 저하와 밀접한 관련성이 있어 뇌의 DHA 함량이 낮은 동물의 경우 정상 범위의 DHA 함량을 가진 그룹에 비해 공간 기억력 및 후각에 기초한 기억력에 결함이 있음이 보고되었다[50].

소뇌의 지방산 조성의 경우(Table 8)에는 총 포화지방산, 총 monounsaturated 지방산 및 총 지방산의 함량에는 유의적 차이는 없었다. 총 n-6 지방산의 함량은 control군에 비해 mackerel군에서 31%로 감소하였으며, n-6 계열 지방산 중에서 mackerel군의 20:4n-6의 함량은 control군보다 43%로 감소하였다($P<0.05$). N-3 계열 지방산 중에서 18:3n-3의 함량은 mackerel군이 control군에 비해 17%로 감소한 반면 mackerel군의 총 n-3 지방산과 DHA의 함량은 control군보다 각각 15%, 18%로 증가하였다($P<0.05$).

Table 9에는 간 지방산 조성을 나타내고 있으며, 총 포화지방산과 총 n-6 지방산의 함량은 control군, mackerel군 간에 유의적 차이가 없었다. 총 monounsaturated 지방산과 총 지방산 함량은 control군에 비해 각각 65%, 25%로 감소한 반면 총 n-3 지방산의 함량은 mackerel군에서 control군보다 14.8배로 증가하였다($P<0.05$). N-6 계열 지방산 중에서 18:2n-6, 22:2n-6의 함량은 control군에 비해 mackerel군에서 각각 79%, 1606%로 증가하였으나 20:2n-6과 DPAn-6의 함량은 각각 56%, 97%로 감소하였다($P<0.05$). N-3 계열 지방산 중에서 18:3n-3은 control군에 비해 mackerel군에서 34%로 감소하였고 반면 20:3n-3과 특히 EPA와 DHA의 함량은 mackerel군이 control군보다 3.8배, 34.8배 및 31.9배로 상당히 증가하였다($P<0.05$). Lim[50]은 n-3계 지방산이 결핍된 식이를 섭취한 쥐는 n-3계 지방산이 적절히 섭취한 쥐들보다 이유기의 DHA는 65%로 감소한 반면 DPAn-6의 함량은 59% 증가하였고 성숙기 때의 DPAn-6

의 함량이 143%까지 증가하였음을 보고하였다. Kim 등은 n-3계 다가불포화지방산 함유 비율이 높은 정어리유와 n-6계 다가불포화지방산 함유비율이 높은 홍화유를 동량 혼합 급여하였을 때, 간과 뇌 등 주요 장기 및 조직의 지질개선 효과가 높았다고 보고하였다[51]. Ruiter 등[52]은 새끼 돼지들에게 olive 기름과 고등어 기름을 하루에 100 g씩 4주 동안 섭취를 시켰을 때, 고등어 기름을 섭취한 그룹이 간, 혈장 및 심장 근육의 지방산 구성에서 n-3계 지방산의 함량이 더 높았고 n-6계 지방산과 n-9 지방산의 함량은 낮게 나타났으며, 또한 혈중 hemoglobin, 혈장 glucose 및 혈장 중성지질의 함량 역시 낮게 나타났다고 보고하였다.

심장의 지방산 조성을 살펴보면(Table 10), 총 지방산의 함량은 두 군 간의 유의적 차이가 없었으나 총 포화지방산과 총 n-3 지방산의 함량은 mackerel군에서 control군에 비해 각각 15%, 771%로 증가하였고, 총 monounsaturated 지방산 및 총 n-6 지방산의 함량은 control군에 비해 각각 59%, 71%로 감소하였다($P<0.05$). N-3 계열 지방산 중에서 18:3n-6의 함량은 control군보다 mackerel군에서 86%로 증가한 반면 mackerel군의 18:2n-6과 20:3n-6, 20:4n-6 및 DPAn-6의 함량은 control군에 비해 각각 54%, 85%, 79% 및 82%로 감소하였다($P<0.05$). N-3 계열 지방산 중에서 18:3n-3의 함량은 control군보다 mackerel군에서 62%로 감소한 반면 mackerel군의 DHA 함량은 control군에 비해 9.2배로 상당히 높게 나타났다($P<0.05$). Murphy 등[53]은 guinea pig를 이용하여 심장을 추출한 후 지질부분을 인지질과 중성지질로 나누어 살펴본 실험에서 어유를 첨가한 식이군의 경우 control군에 비하여 심장 인지질의 총 monounsaturated 지방산의 증가와 중성지질의 총 포화지방산의 감소를 보고하였고 인지질과 중성지질의 n-6/n-3 비의 감소를 관찰하였다.

Table 11은 신장의 지방산 조성을 나타내고 있으며, 총 지방산과 총 n-6의 함량은 mackerel군과 control군 두 군 간의 유의적 차이가 없었고 총 포화 지방산과 총 n-3 지방산의 함량은 mackerel군에서 control군보다 각각 28%, 198%로 증가한 반면 총 monounsaturated 지방산의 함량은 control군보다 mackerel군에서 31%로 감소하였다($P<0.05$). N-6 계열 지방산 중에서 22:2n-6의 함량은 mackerel군이 control군에 비해 204%로 증가한 반면 mackerel군의 18:2n-6, 20:2n-6, 20:3n-6 및 22:5n-6의 경우 control군에 비해 함량이 각각 20%, 44%, 59% 및 36%로 감소하였다($P<0.05$). N-3 계열 지방산 중에서 18:3n-3과 20:3n-3의 함량은 control군보다 mackerel군에서 각각 74%, 59%로 감소하였고 반면 mackerel 군의 EPA와 DHA는 control군에 비해 각각 88%,

226%로 높은 함량을 나타내었다($P<0.05$).

Table 6. Effect of mackerel intake on mouse serum fatty acid composition (wt % of total fatty acids)

	Control	Mackerel
Fatty acids		
Total Sat.²	31.0 ± 0.53¹	35.3 ± 1.41*
Total Mono.³	31.7 ± 2.11	15.1 ± 1.41*
18:2n-6	11.1 ± 1.02	9.2 ± 0.44
18:3n-6	0.1 ± 0.01	0.1 ± 0.01
20:2n-6	0.3 ± 0.02	0.2 ± 0.02*
20:3n-6	1.6 ± 0.10	0.3 ± 0.03*
20:4n-6	9.0 ± 0.91	8.1 ± 0.58
22:2n-6	0.01 ± 0.01	0.1 ± 0.03*
22:5n-6	1.1 ± 0.18	0.2 ± 0.02*
Total n-6	23.3 ± 1.50	18.3 ± 0.62*
18:3n-3	0.4 ± 0.05	0.3 ± 0.03
20:3n-3	0.1 ± 0.02	0.03 ± 0.02*
20:5n-3	0.1 ± 0.02	5.0 ± 0.30*
22:6n-3	1.0 ± 0.09	13.7 ± 0.21*
Total n-3	1.6 ± 0.08	19.0 ± 0.27*
Total Fatty Acids (µg/mg wt)	4.7 ± 0.81	3.1 ± 0.45

¹Each variable represents the mean ± SEM, n=5.

²Sat. means saturated fatty acids

³Mono. means monounsaturated fatty acids

*P<0.05, significant effect between the control and mackerel groups

Table 7. Effect of mackerel intake on mouse cortex fatty acid composition (wt % of total fatty acids)

	Control	Mackerel
Fatty acids		
<i>Total Sat.</i> ²	<i>42.2 ± 1.85¹</i>	<i>43.5 ± 1.18</i>
<i>Total Mono.</i> ³	<i>24.0 ± 1.70</i>	<i>22.6 ± 1.21</i>
18:2n-6	0.2 ± 0.01	0.2 ± 0.01
18:3n-6	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01
20:2n-6	0.1 ± 0.01	0.2 ± 0.01
20:3n-6	0.1 ± 0.06	0.2 ± 0.06
20:4n-6	9.9 ± 0.31	6.9 ± 0.16*
22:2n-6	0.03 ± 0.01	0.04 ± 0.002
22:5n-6	2.3 ± 0.26	0.9 ± 0.20*
<i>Total n-6</i>	<i>12.8 ± 0.42</i>	<i>8.6 ± 0.18*</i>
18:3n-3	0.3 ± 0.03	0.3 ± 0.01
20:3n-3	0.1 ± 0.03	0.1 ± 0.03
22:6n-3	13.4 ± 0.53	18.0 ± 0.28*
<i>Total n-3</i>	<i>13.8 ± 0.53</i>	<i>18.4 ± 0.26*</i>
<i>Total Fatty Acids</i> (µg/mg wt)	<i>18.3 ± 1.32</i>	<i>21.1 ± 1.46*</i>

¹Each variable represents the mean ± SEM, n=5.

²Sat. means saturated fatty acids

³Mono. means monounsaturated fatty acids

*P<0.05, significant effect between the control and mackerel groups

Table 8. Effect of mackerel intake on mouse cerebellum fatty acid composition (wt % of total fatty acids)

	Control	Mackerel
Fatty acids		
Total Sat.²	38.7 ± 0.84¹	37.0 ± 1.09
Total Mono.³	29.5 ± 0.61	28.5 ± 1.09
18:2n-6	0.3 ± 0.02	0.2 ± 0.05
18:3n-6	0.05 ± 0.01	0.1 ± 0.01
20:2n-6	0.2 ± 0.02	0.3 ± 0.07
20:3n-6	0.3 ± 0.01	0.6 ± 0.19
20:4n-6	6.6 ± 0.16	3.7 ± 0.10*
22:2n-6	0.1 ± 0.01	0.1 ± 0.02
22:5n-6	1.3 ± 0.13	1.1 ± 0.20
Total n-6	8.8 ± 0.20	6.0 ± 0.32*
18:3n-3	0.8 ± 0.04	0.7 ± 0.04*
20:3n-3	0.4 ± 0.04	0.4 ± 0.05
22:6n-3	10.9 ± 0.28	12.9 ± 0.19*
Total n-3	12.1 ± 0.29	14.0 ± 0.16*
Total Fatty Acids (µg/mg wt)	14.7 ± 2.54	13.9 ± 2.18

¹Each variable represents the mean ± SEM, n=5.

²Sat. means saturated fatty acids

³Mono. means monounsaturated fatty acids

*P<0.05, significant effect between the control and mackerel groups

Table 9. Effect of mackerel intake on mouse liver fatty acid composition (wt % of total fatty acids)

	Control	Mackerel
Fatty acids		
<i>Total Sat.</i> ²	<i>35.7 ± 1.12¹</i>	<i>36.6 ± 0.74</i>
<i>Total Mono.</i> ³	<i>51.4 ± 1.76</i>	<i>18.1 ± 0.71*</i>
18:2n-6	3.8 ± 0.70	6.8 ± 0.29*
18:3n-6	0.3 ± 0.07	0.5 ± 0.13
20:2n-6	0.3 ± 0.06	0.1 ± 0.004*
20:3n-6	0.2 ± 0.06	0.02 ± 0.002
20:4n-6	3.4 ± 0.61	4.3 ± 0.34
22:2n-6	0.02 ± 0.01	0.3 ± 0.04*
22:5n-6	0.6 ± 0.08	0.02 ± 0.01*
<i>Total n-6</i>	<i>8.6 ± 1.54</i>	<i>12.3 ± 0.46</i>
18:3n-3	0.9 ± 0.07	0.6 ± 0.03*
20:3n-3	0.1 ± 0.04	0.4 ± 0.06*
20:5n-3	0.1 ± 0.02	3.2 ± 0.23*
22:6n-3	0.7 ± 0.14	21.8 ± 0.62*
<i>Total n-3</i>	<i>1.8 ± 0.21</i>	<i>26.0 ± 0.44*</i>
<i>Total Fatty Acids</i> ($\mu\text{g}/\text{mg wt}$)	<i>70.0 ± 5.12</i>	<i>52.5 ± 5.51*</i>

¹Each variable represents the mean ± SEM, n=5.

²Sat. means saturated fatty acids

³Mono. means monounsaturated fatty acids

*P<0.05, significant effect between the control and mackerel groups

Table 10. Effect of mackerel intake on mouse heart fatty acid composition (wt % of total fatty acids)

	Control	Mackerel
Fatty acids		
Total Sat.²	34.4 ± 0.52¹	39.6 ± 0.87*
Total Mono.³	35.9 ± 2.39	14.7 ± 3.09*
18:2n-6	5.5 ± 0.53	2.6 ± 0.21*
18:3n-6	0.04 ± 0.002	0.1 ± 0.01*
20:2n-6	0.2 ± 0.01	0.2 ± 0.02
20:3n-6	0.7 ± 0.09	0.1 ± 0.04*
20:4n-6	8.9 ± 1.01	1.9 ± 0.13*
22:2n-6	0.03 ± 0.03	0.01 ± 0.01
22:5n-6	4.5 ± 0.61	0.8 ± 0.03*
Total n-6	20.0 ± 1.98	5.9 ± 0.21*
18:3n-3	0.2 ± 0.03	0.1 ± 0.01*
20:3n-3	0.01 ± 0.005	0.01 ± 0.01
20:5n-3	–	0.1 ± 0.02
22:6n-3	3.8 ± 0.24	34.6 ± 2.97*
Total n-3	4.0 ± 0.24	34.8 ± 2.97*
Total Fatty Acids (µg/mg wt)	27.8 ± 3.38	22.4 ± 2.37

¹Each variable represents the mean ± SEM, n=5.

²Sat. means saturated fatty acids

³Mono. means monounsaturated fatty acids

*P<0.05, significant effect between the control and mackerel groups

Table 11. Effect of mackerel intake on mouse kidney fatty acid composition (wt % of total fatty acids)

	Control	Mackerel
Fatty acids		
<i>Total Sat.</i> ²	<i>34.2 ± 0.43¹</i>	<i>43.8 ± 1.47*</i>
<i>Total Mono.</i> ³	<i>41.8 ± 0.81</i>	<i>20.2 ± 2.64*</i>
18:2n-6	4.6 ± 0.27	3.7 ± 0.18*
18:3n-6	0.1 ± 0.02	0.04 ± 0.01
20:2n-6	0.2 ± 0.01	0.1 ± 0.003*
20:3n-6	0.6 ± 0.08	0.3 ± 0.03*
20:4n-6	7.0 ± 0.67	7.3 ± 0.90
22:2n-6	0.02 ± 0.01	0.1 ± 0.01*
22:5n-6	2.1 ± 0.25	1.4 ± 0.14*
<i>Total n-6</i>	<i>14.1 ± 0.84</i>	<i>13.1 ± 0.94</i>
18:3n-3	0.3 ± 0.03	0.1 ± 0.01*
20:3n-3	0.1 ± 0.01	0.03 ± 0.01*
20:5n-3	0.4 ± 0.03	0.8 ± 0.10*
22:6n-3	4.9 ± 1.47	16.1 ± 1.53*
<i>Total n-3</i>	<i>5.7 ± 1.47</i>	<i>17.1 ± 1.62*</i>
<i>Total Fatty Acids</i> ($\mu\text{g}/\text{mg wt}$)	<i>30.7 ± 1.63</i>	<i>24.7 ± 2.97</i>

¹Each variable represents the mean ± SEM, n=5.

²Sat. means saturated fatty acids

³Mono. means monounsaturated fatty acids

*P<0.05, significant effect between the control and mackerel groups

4. 국 문 요 약

본 논문은 오메가-3 지방산이 풍부하게 함유된 고등어를 기존의 열풍건조기의 단점을 보완하고 높은 온도에서 손실되는 영양소를 막기 위해 저온진공건조기를 도입하여 건조 시킨 후, 건조고등어의 섭취에 의한 마우스의 혈청 및 조직에서의 지질과 지방산 조성 변화 그리고 기억학습에 미치는 영향에 대해 연구하였다.

수동회피반응을 통한 마우스들의 학습 및 기억력 시험을 실행한 결과, 실험 첫 번째 날에는 마우스들이 전기쇼크에 대한 경험이 없었기 때문에 control군과 mackerel군에서 다 latency가 30초 이내로 매우 짧았다. 실험이 진행될수록 각군의 latency가 증가하는 것을 볼 수 있었으며, 특히 실험 두 번째 날에는 mackerel군에서 control군에 비해 유의적으로 latency가 길었음을 살펴볼 수 있었다($P<0.05$). 실험 세 번째 날과 네 번째 날의 경우, control군에 비해 mackerel군에서 긴 latency가 나타났지만 유의성은 없었다. 마우스들의 혈청 및 조직의 지질 대사 개선 정도를 알아보았을 때, mackerel군의 간과 심장의 중성지질 함량은 control군에 비해 낮은 경향을 나타내었으나, mackerel군의 혈청과 신장의 중성지질 함량은 control군에 비해 유의적으로 감소하였다($P<0.05$). 다른 조직들의 총콜레스테롤 함량은 두 군 간의 유의적 차이가 없었으나, 혈청의 경우 mackerel군에서 control군에 비해 유의적으로 감소하였다($P<0.05$). LDL-콜레스테롤 함량의 경우, mackerel군의 혈청에서 control군에 비해 유의적으로 감소하였다($P<0.05$). Mackerel군의 심장과 신장의 HDL-콜레스테롤 함량은 control군보다 감소하는 경향을 나타내었지만 유의성을 보이지 않았으나, 간의 HDL-콜레스테롤 함량은 control군에 비해 유의적으로 감소하였다($P<0.05$). Control군과 mackerel군의 마우스로부터 혈청, 간, 대뇌 피질, 소뇌, 심장 및 신장 조직을 취해 이들 조직들의 지방산 조성을 비교 검토하였을 때, 혈청의 지방산 조성의 경우, 총 n-6 지방산과 DPA n-6의 함량은 mackerel군에서 control군보다 유의적으로 감소하였으며, 총 n-3 지방산의 함량 및 특히 EPA와 DHA의 함량은 control군보다 mackerel군에서 매우 높은 수치를 나타내었다($P<0.05$). 대뇌 피질의 지방산 조성의 경우, mackerel군의 총 n-6 지방산, 20:4n-6 및 DPA n-6의 함량은 control군에 비해 유의적으로 감소한 반면 mackerel군의 총 n-3 지방산과 DHA의 함량은 control군보다 유의적으로 증가하였다($P<0.05$). 소뇌의 지방산 조성의 경우, mackerel군의 총 n-6 지방산과 20:4n-6의 함량은 control군에 비해 감소한 반면, 총 n-3 지방산과 DHA의 함

량은 mackerel군에서 유의적으로 증가하였다($P<0.05$). 간 지방산 조성을 보면, 총 지방산의 함량이 mackerel군이 control군에 비해 유의적으로 감소하였으며, n-6계열 지방산 중에서 18:2n-6과 22:2n-6의 함량은 control군보다 mackerel군에서 증가한 반면 20:2n-6 및 DPAn-6의 함량은 control군에 비해 유의적으로 감소하였다($P<0.05$). Mackerel군의 총 n-3 지방산의 함량과 특히 n-3 계열 지방산 중 EPA와 DHA의 함량이 control군에 비해 상당히 증가하였다($P<0.05$). 심장의 지방산 조성을 살펴보면, mackerel군의 총 n-6 지방산과 18:2n-6, 20:3n-6, 20:4n-6 및 DPAn-6의 함량은 유의적으로 감소하였으나 총 n-3 지방산의 함량은 유의적으로 증가하였고, 특히 DHA 함량은 control군에 비해 상당히 높게 나타났다($P<0.05$). 신장의 지방산 조성의 경우, n-6 계열 지방산 중 18:2n-6, 20:2n-6, 20:3n-6 및 DPAn-6의 함량이 control군에 비해 mackerel군에서 감소하였으며, mackerel군의 총 n-3 지방산의 함량과 특히 EPA 및 DHA의 함량이 control군에 비해 유의적으로 증가하였다($P<0.05$). 이상의 결과로부터 건조고등어를 섭취한 마우스의 기억학습능력을 개선시켰으며 이러한 뇌 기능 개선효과는 특히 뇌의 DHA 함량 증가 및 DPAn-6 함량 감소와 밀접한 관련이 있었음을 알 수가 있었다. 또한 건조고등어 섭취로 인한 혈액 내 중성지질과 콜레스테롤 함량의 저하 및 HDL-콜레스테롤 함량 증가와 타 조직에서는 중성지질 함량의 저하효과를 나타내었다. 따라서 향후 뇌기능 개선 및 혈액 및 조직 내의 지질개선효과에 건조고등어의 이용이 기대되어지며 건조고등어를 이용한 건강식품개발이 필요하다고 여겨진다.

감사의 글

실험실에 왔을 때는 막 새로 생겨 배워야 할 것도 많았고 힘든 일도 많았지만, 지금의 실험실을 돌아보면 뿌듯함과 보람을 느낍니다. 이 경험을 바탕으로 사회에 나가서도 앞으로의 일어날 일들을 잘 헤쳐 나갈 자신도 생깁니다.

먼저 아무것도 모르고 많이 부족했던 저를 이 날까지 따뜻한 충고와 함께 부족한 부분을 채워주신 임선영 교수님께 진심으로 감사드립니다. 그리고 해양환경생명과학부에 입학하여 항상 좋은 가르침과 새로운 학문을 가르쳐주신 강효진 교수님, 노일 교수님, 박인석 교수님, 서영완 교수님, 안종웅 교수님, 이정은 교수님, 이호진 교수님, 조성환 교수님, 최철영 교수님, 공창숙 박사님께 감사드립니다. 뿐만 아니라 정현인 조교언니에게도 고맙다는 말을 하고 싶습니다. 작년 이맘때 실험을 할 수 있게끔 도와주신 성신여대 식품영양학과 이명숙 교수님께도 감사드리며, 실험을 배우는 동안 옆에서 많이 도와줬던 수정이에게도 고맙다는 말 전합니다. 대학원 생활 시작할 때 힘들어하고 지쳐있는 저를 항상 웃게 해주었던 누리, 민영, 혜리, 희경이와 올해 실험실에서 지내온 은혜, 수정, 진혁오빠에게도 고맙다는 말 전합니다. 그리고 주리랑 혜진아, 언니가 미쳐 신경 못 쓰는 부분까지도 잘 챙겨주고, 잘 따라줘서 항상 고마워. 뿐만 아니라 대학 생활하면서 같이 지내온 우리 02학번들 동기들과 과선후배들, 그리고 기숙사 조교를 하면서 알게 된 동생들에게도 고맙다는 말 전합니다.

내 가장 소중한 사람들. 파도소리 16기 동기들과 우리 빌레이트 자매들, 혜민이언니, 경희, 수연이, 효주, 현진이. 우리들 종종 싸우기도 했었지만 신났던 기억이 더 많은 거 같다. 다들 소중한 기억 많이 만들어줘서 고마워~

마지막으로 항상 저를 지지해주시고 믿어주시는 부모님. 학교 생활한다고 부모님께 소홀했던 적도, 섭섭하게 해드린 일도 있었지만 못 해드렸던 것과 부족한 부분들을 조금씩 채워나가서 엄마, 아빠의 자랑스러운 딸이 될게요. 그리고 내 동생 문화야, 힘든 일도 종종 있었지만 잘 견디면서 이겨냈던 것 같아. 지금 하고 있는 일, 열심히 배우고 네가 꿈꾸는 일을 언젠가는 이룰 수 있을 꺼라 믿어. 마지막으로 할아버지, 기대에 어긋나지 않도록 노력하겠습니다. 항상 건강하세요. 지금의 제가 있는 것은 다 가족의 따뜻한 사랑과 믿음이 있었기에 가능했습니다.

이 모든 분들이 있었기에 대학원 생활을 잘 지낼 수 있었고, 이 논문을 완성이 될 수 있지 않았나 싶습니다. 지금까지의 가르침을 발판 삼아 앞으로 더 나아가 보답하고 싶습니다.

문 헌

1. Adan, Y., K. Shibata, M. Sato, I. Ikeda and K. Imaizumi. 1999. Effects of docosahexaenoic and eicosapentaenoic acid on lipid metabolism, eicosanoid production, platelet aggregation and atherosclerosis in hypercholesterolemic rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **63**, 111-119.
2. Yamada, N., J. Shimizu, M. Wada, T. Takita and S. Innami. 1998. Changes in platelet aggregation and lipid metabolism in rats given dietary lipids containing different n-3 polyunsaturated fatty acids. *J. Nutr. Sci. Vitaminol* (Tokyo). **44**, 279-289.
3. Kestin, M., P. Clifton, G. B. Belling and P. J. Nestel. 1990. N-3 fatty acids of marine origin lower systolic blood pressure and triglycerides but raise LDL cholesterol compared with n-3 and n-6 fatty acids from plants. *Am. J. Clin. Nutr.* **51**, 1028-1034.
4. Weber, P. C. and A. Leaf. 1991. Cardiovascular effects of omega 3 fatty acids. In: Simopoulos, A. P., Kifer, R. R., Martin, R. E. and Barlow, S. (eds), *Health effects of ω 3 polyunsaturated fatty acids in seafoods. World Review of Nutrition and Dietetics*, Basel, Karger, Vol. 66, pp 218-232.
5. Froyland, L., H. Vaagenes, D. K. Asiedu, A. Garras, O. Lie and R. K. Berge. 1996. Chronic administration of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid as ethyl esters reduced plasma cholesterol and changed the fatty acid composition in rat blood and organs. *Lipids* **31**, 169-178.
6. Harris, W. S., W. E. Connor, S. B. Inkeles and D. R. Illingworth. 1984. Dietary omega-3 fatty acids prevent carbohydrate-induced hypertriglyceridemia. *Metabolism* **33**, 1016-1019.
7. Illingworth, D. R., W. S. Harris and W. E. Connor. 1984. Inhibition of low density lipoprotein synthesis by dietary omega-3 fatty acids in humans. *Arteriosclerosis* **4**, 270-275.
8. Harris, W. S., W. E. Connor and M. P. McMurry. 1983. The comparative reductions of the plasma lipids and lipoproteins by dietary polyunsaturated fats : Salmon oil versus vegetable oils. *Metabolism*. **32**, 179-184.
9. Nelson, G. J., P. C. Schmidt, G. L. Bartolini, D. S. Kelley and D. Kyle.

1997. The effect of dietary docosahexaenoic acid on plasma lipoproteins and tissue fatty acid composition in humans. *Lipids* **32**, 1137-1146.
10. Newman, R. E., W. L. Bryden., E. Fleck, J. R. Ashes, W. A. Buttemer, L. H. Storlien and J. A. Downing. 2002. Dietary *n*-3 and *n*-6 fatty acids alter avian metabolism: metabolism and abdominal fat deposition. *Br. J. Nutr.* **88**, 11-18.
11. Bronsgeest-Schoute, H. C., C. M. Van Gent, J. B. Luten and A. Ruiter. 1981. The effect of various intakes of ω 3 fatty acids on the blood lipid composition in healthy human subjects. *Am. J. Clin. Nutr.* **34**, 1752-1757.
12. Herold, P. M. and J. E. Kinsella. 1986. Fish oil consumption and decreased risk of cardiovascular disease : a comparison of findings from animal and human feeding trials. *Am. J. Clin. Nutr.* **43**, 566-598.
13. Bourre, J. M., O. Dumont, G. Pascal and G. Durand. 1993. Dietary alpha-linolenic acid at 1.3 g/kg maintains maximal docosahexaenoic acid concentration in brain, heart and liver of adult rats. *J. Nutr.* **123**, 1313-1319.
14. Bourre, J. M., O. S. Dumont, M. J. Piciotti, G. A. Pascal and G. A. Durand. 1992. Dietary alpha-linolenic acid deficiency in adult rats for 7 months does not alter brain docosahexaenoic acid content, in contrast to liver, heart and testes. *Biochim. Biophys. Acta* **1124**, 119-122.
15. Hamosh, M. and N. Salem. 1998. Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids. *Biol. Neonate* **74**, 106-120.
16. Simopoulos A. P. 1991. Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *Am. J. Clin. Nutr.* **54**, 438-463.
17. Greiner, R. S., T. Moriguchi, B. M. Slotnick, A. Hutton and N. Salem. 2001. Olfactory discrimination deficits in n-3 fatty acid-deficient rats. *Physiol. Behav.* **72**, 379-385.
18. Green P. and E. Yavin. Mechanisms of docosahexaenoic acid accretion in the fetal brain. *J. Neurosci. Res.* **15**, 129-136.
19. Neuringer, M. and W. E. Connor. 1986. N-3 fatty acids in the brain and retina ; Evidence for their essentiality. *Nutr. Rev.* **44**, 285-294.
20. Singh, G. and R. K. Chandra. 1988. Biochemical and cellular effects on fish and fish oils. *Prog. Food Nutr. Sci.* **12**, 371-419.

21. Tinoco, J. 1982. Dietary requirements and functions of alpha-linolenic acid on animals. *Prog. Lipid Res.* **21**, 1-45.
22. Bourre, J. M., M. Francois, A. Youyou, O. Dumont, M. Piciotti, G. Pascal and G. Durand. 1989. The effects of dietary alpha-linolenic acid on the composition of nerve membranes, enzymatic activity, amplitude of electrophysiological parameters, resistance to poisons and performance of learning tasks in rats. *J. Nutr.* **119**, 1880-1892.
23. Moriguchi, T., R. S. Greiner and N. Salem. 2000. Behavioral deficits associated with dietary induction of decreased brain docosahexaenoic acid concentration. *J. Neurochem.* **75**, 2563-2573.
24. Salem, N., B. Litman, H. Y. Kim and K. Gawrisch. 2001. Mechanisms of action of docosahexaenoic acid in the nervous system. *Lipids* **36**, 945-959.
25. Tinoco, J., R. Babcock, I. Hincenbergs, B. Medwadowski and P. Miljanich. 1978. Linolenic acid deficiency: Changes in fatty acid patterns in female and male rats raised on a linolenic acid-deficient diet for two generations. *Lipids* **13**, 6-17.
26. Weisinger, H. S., A. J. Vingrys and A. J. Sinclair. 1996. Effect of dietary n-3 deficiency on the electroretinogram in the guinea pig. *Ann. Nutr. Meta.* **40**, 91-98.
27. Connor, W. E. and S. L. Connor. 1982. The dietary treatment of hyperlipidemia. Rationale, technique and efficacy. *Med. Clin. North Am.* **66**, 485-518.
28. Paul R., C. S. Ramesha, J. Ganguly. 1980. On the mechanism of hypocholesterolemic effects of polyunsaturated lipids. *Adv. lipid Res.* **17**, 155-171.
29. Kim, Y. K. and K. J. Joo. 1994. EPA, DHA and tocopherols contents in fish oil products and fishes. *J. Kor. Soc. Food Nutr.* **23**, 68-72.
30. Kong, C. S., Bak, S. S., Jung, K. O., Kil, J. H., Lim, S. Y. and Park, K. Y. 2005. Antimutagenic and anticancer effects of salted mackerel with various kinds of salts. *J. Kor. Fish Soc.* **38**, 281-285.
31. Kim, K. K. 1999. Thermal characteristics of agriculture and fisheries by low temperature vacuum dryer. *Proceedings of the KSME 1999 Spring*

Annual Meeting, pp 1-6.

32. Reeves P. G., F. H. Nielsen and G. C. Fahey. 1993. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J. Nutr.* **123**, 1939-1951.
33. Bradford M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **72**, 248-254.
34. McGowan, M. W., Artiss, J. D., Strandbergh, D. R., Zak, B. 1983. A peroxidase-coupled method for the colorimetric determination of serum triglycerides. *Clin. Chem.* **29**, 538-542.
35. Allain, C. C., Poon, L. S., Chan, C. S. G., Richmond, W. and Fu, P. C. 1974. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin. Chem.* **20**, 470-475.
36. Friedewald, W. T., Levy, R. I. and Fredrickson, D. S. 1972. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem.* **18**, 499-502.
37. Folch, J., M. Lees and G. H. Sloane Stanley. 1957. A Simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.* **226**, 497-509.
38. Morrison, W. R. and L. M. Smith. 1964. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride-methanol. *J. Lipid Res.* **5**, 600-608.
39. Salem, N., M. Reyzer and J. Karanian. 1996. Losses of arachidonic acid in rat liver after alcohol inhalation. *Lipids* **31**, 153-156.
40. Minamia M., S. Kimura, T. Endo, N. Hamaue, M. Hirafuji, H. Togashi, M. Matsumoto, M. Yoshioka, H. Saito, S. Watanabe, T. Kobayashi and H. Okuyama. 1997. Dietary docosahexaenoic acid increases cerebral acetylcholine levels and improves passive avoidance performance in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **58**, 1123-1129.
41. Suzuki H., S. J. Park, M. Tamura and S. Ando. 1998. Effect of the long-term feeding of dietary lipids on the learning ability, fatty acid

- composition of brain stem phospholipids and synaptic membrane fluidity in adult mice: A comparison of sardine oil diet with palm oil diet. *Mech. Age. Dev.* **101**, 119-128.
42. Kim, C. J. and Park, H. S. 1991. Influence of different dietary fats and fat unsaturation on plasma lipid composition in healthy young women. *Kor. J. Nutr.* **24**, 179-188.
 43. Park, H. S. and Han, S. H. 1988. Effect of n-3 polyunsaturated fatty acids on serum lipoprotein and lipid compositions in human subjects. *Kor. J. Nutr.* **21**, 61-74.
 44. Choi, I. S. and Jin, B. H. 1987. Effects of sardine oil on plasma lipids, fatty acid composition of erythrocyte membrane phospholipids and lipid peroxide levels of plasma and liver in rats. *Kor. J. Nutr.* **20**, 330-340.
 45. Kim, H. S., Kim, S. H. and Chung, S. Y. 1992. Effects of the feeding mixed oils of the butter, sardine and safflower oils on fatty acid metabolism of serum and liver in rats. *J. Kor. Soc. Food Nutr.* **21**, 617-626.
 46. Kim, H. S. and Chung, S. Y. 1992. Effects of feeding the mixed oils of butter, sardine and safflower on the lipid components in serum and activities of hepatic functional enzymes in rats. *J. Kor. Soc. Food Nutr.* **21**, 608-616.
 47. Lim S. Y. 2007. Effect of n-3 fatty acid deficiency on fatty acid compositions of nervous systems in rats reared by artificial method. *J. Life Sci.* **17**, 634-640.
 48. Choi, W. J., H. S. Kim, S. H. Kim, I. S. Su, G. J. Kim and S. Y. Chung. 1994. Effects of feeding the mixture of linseed and sunflower seed oil on the fatty acid composition in lipid of brain and heart in dietary hyperlipidemic rats. *J. Kor. Soc. Food Nutr.* **23**, 205-211.
 49. Lim, S. Y. 2005. Effect of n-3 fatty acid deficiency on fatty acid composition in brain, retina and liver using a novel artificial rearing system. *J. Kor. Soc. food Sci. Nutr.* **34**, 466-475.
 50. Lim, S. Y., J. Hoshiba, T. Moriguchi and N. Salem. 2005. N-3 fatty acid deficiency induced by a modified artificial rearing method leads to poorer performance in spatial learning tasks. *Pedia. Res.* **58**, 741-748.

51. Kim, H. S., S. H. Kim, G. J. Kim, W. J. Choi and S. Y. Chung. 1993. Effects of the feeding mixed oils with various level of n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acid on the lipid components of liver, brain, testis and kidney in dietary hyperlipidemic rats. *J. Kor. Soc. food Nutr.* **22**, 685-691.
52. Ruiter A., A. W. Jongbloed, C. M. van Gerit, L. H. Danse, S. H. Metz. 1978. The influence of dietary mackerel oil on the condition of organs and on blood lipid composition in the young growing pig. *Am. J. Clin. Nutr.* **31**. 2159-2166.
53. Murphy, M. G., Wright, V., Ackman, R. G. and Horackova, M. 1997. Diets enriched in menhaden fish oil, seal oil, or shark liver oil have distinct effects on the lipid and fatty-acid composition of guinea pig heart. *Molecular and Cellular Biochemistry* **177**, 257-269.